

## RESULTADOS DE UN TRATAMIENTO PROSPECTIVO Y RANDOMIZADO EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

Dres. F. Sackmann-Muriel, M. Felice, P. Zubizarreta, G. Chantada, M. Fernández Barbieri, J. Rossi

### RESUMEN

Desde agosto de 1987 a Diciembre de 1989, ingresaron al Hospital de Pediatría Garrahan 98 pacientes consecutivos con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA); la edad de los mismos fue menor de 16 años y ninguno de ellos había recibido tratamiento previo. Todos fueron registrados en el Protocolo 7-LLA-87. Seis de ellos no fueron evaluables. Los grupos de riesgo fueron definidos de la siguiente manera: alto riesgo (n=65): edad menor de 2 años y mayor de o igual a 10; recuento de leucocitos igual o mayor de  $10 \times 10^9$  /L; compromiso inicial de sistema nervioso central y/o mediastino y/o inmunofenotipo T; recuento de blastos en sangre periférica después de 7 días de prednisona igual o mayor de  $1 \times 10^9$  /L o persistencia de más de 5 % de blastos en la médula ósea los días 22 o 43 del tratamiento. Los restantes pacientes fueron definidos como de bajo riesgo (n=27). El tratamiento fue basado en el protocolo ALL-BFM 86. El mismo consiste en la administración de 8 drogas en un período de 10 semanas como regimen de inducción (protocolo I), seguido por 4 dosis de metotrexato a  $1 \text{ g/m}^2$  más rescate con leucovorina cada 2 semanas y 6- mercaptopurina diaria (protocolo M). En los pacientes de bajo riesgo el esquema fue completado con una terapia de continuación que consistía en 6-mercaptopurina más metotrexato y pulsos con vincristina más prednisona dados trimestralmente hasta completar 24 meses. En los pacientes de alto riesgo se realizó una intensificación retardada (protocolo II) después del protocolo M. La terapia de continuación fue prospectivamente randomizada entre regimen de continuación estándar y 4 pares de drogas (etopósido + ciclofosfamida; 6- mercaptopurina + metotrexato; tenipósido + citarabina y vincristina + prednisona) con rotación semanal hasta completar 24 meses de tratamiento. La prevención del sistema nervioso central fue realizada con triple quimioterapia intratecal; además los pacientes con igual o más de  $10 \times 10^9$  /L leucocitos iniciales y/o compromiso mediastinal y/o inmunofenotipo T recibieron 2400 cGy de irradiación craneal antes de la intensificación retardada. En el análisis realizado al 1 de Enero de 1997 todos los pacientes se encontraban a más de 60 meses de haber finalizado el tratamiento. Se obtuvo la remisión completa en el 96% de los pacientes. Con una media de seguimiento de 98 meses (rango: 84-112 meses), la sobrevida libre de eventos a 5 años es de 64 % error estándar (EE) 5; 77 % EE 8 en el bajo riesgo (n=27) y 59 % EE 6 en el alto riesgo (n=65) (p=0.17). En lo que se refiere al grupo de alto riesgo a partir de la randomización, la sobrevida libre de eventos del grupo estándar fue de 54 % EE 8 (n=36) y la del grupo de continuación rotacional fue de 90 % EE 6 (n=20) (p=0.004). Nuestra conclusión a partir de esta evaluación es que, en los pacientes de alto riesgo, un regimen de continuación rotacional, más intensivo después de los protocolos I, M y II, mejora significativamente los resultados.

**Palabras clave:** Leucemia linfoblástica aguda, tratamiento, mantenimiento rotacional, niños.

Medicina Infantil 1998; V: 252 - 260.

### ABSTRACT

*Purpose: The objectives of this study are: 1) to use intensified BFM-like chemotherapy to achieve long-term remission and cure in children with ALL, and 2) to randomly compare in higher-risk patients the effectiveness and toxicity of a standard continuation regimen versus extended treatment intensification during continuation with weekly rotation of the four-drug pairs used in St Jude Total XI. Patients and Methods: From August 1987 to December 1989, 98 children were treated at a single institution. Six patients were excluded. Risk groups were defined as follows: Higher-risk (n=65), age <2 or 10 years of age; WBC count  $10 \times 10^9$ /L; initial CNS and/or mediastinal involvement; peripheral blast count  $1 \times 10^9$ /L after 7 days of prednisone or persistence or ~5% bone marrow blasts at day 22 or 43. The remaining patients were defined as lower-risk (n=27). Treatment was based on modified ALL-BFM 86 protocol. It consisted in administration of 8 drugs in a 10 weeks period as induction regimen (protocol 1) followed by 4 biweekly doses of  $1 \text{ g/m}^2$  methotrexate/leucovorin rescue with daily 6 mercaptopurine (protocol M). In lower-risk patients the schedule was completed with a continuation therapy that consisted of 6-mercaptopurine + methotrexate and pulsed with vincristine + prednisone given every three months to complete 24 months. In higher-risk patients, a delayed intensification (Protocol II) was added after protocol M. The continuation regimen which was prospectively randomized between standard continuation regimen and four pairs of drugs rotated weekly to complete 24 months of treatment. CNS preventive therapy was done with triple intrathecal therapy; however, patients with  $10 \times 10^9$ /L initial WBC count and/or mediastinal mass received 2400 cGy cranial irradiation during delayed intensification. Results: Up to January 1997 all patients are off-therapy for at least 60 months. Complete remission was induced in 96% of the patients. At median follow-up of 98 (range 84-112) months, 5-year event-free survival (SE) is 64 (5); 77 (8)% in lower-risk (n=27) and 59 (6)% in higher-risk group (n=65) (p=0.17). Furthermore, in the higher-risk group since randomization, event-free-survival (SE) was 54 (8)% in the standard (n=36) and 90 (6)% in the rotational continuation (n=20) regimen (p=0.004). Conclusion: Our results suggest that a more intensive rotational continuation regimen after protocol 1, protocol M and protocol II in higher-risk patients might improve significantly their outcome.*

**Key Words:** Acute lymphoblastic leukemia, treatment, rotational maintenance, children.

Medicina Infantil 1998; V: 252 - 260.

Servicio de Hematología  
Hospital de Pediatría Juan P. Garrahan  
Recibido: 23-02-98 Aceptado: 01-04-98  
Correspondencia a: Dr. Federico Sackmann Muriel  
Combate de los Pozos 1881 (1245) Buenos Aires

## INTRODUCCION

En la ciudad de Buenos Aires las enfermedades malignas son la primera causa de muerte, entre las edades de 1 y 15 años<sup>1</sup>. Sin embargo, estas enfermedades son afortunadamente poco frecuentes en Pediatría. En el grupo de 0 a 15 años de edad se observan 12,4 casos nuevos cada 100.000 niños en un año. De acuerdo con el Censo Nacional de 1992, se estima que en la Argentina existen 1267 casos nuevos por año en este grupo etéreo. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) constituye aproximadamente el 30% esos casos.

Las lecciones aprendidas en el estudio cuidadoso de esta enfermedad son altamente relevantes para otras enfermedades malignas pediátricas y del adulto. Los mejores ejemplos de este desarrollo incluyen la incesante búsqueda de nuevos agentes terapéuticos efectivos, la administración de la quimioterapia combinada destinada a erradicar completamente al clon maligno, el enfoque multidisciplinario (cirugía, radioterapia, quimioterapia, etc.) y el empleo de nueva y sofisticada tecnología (catéteres endovenosos centrales totalmente implantables o semi-implantables; caracterización inmunológica, cromosómica y molecular; factores de crecimiento hemopoyético, trasplante de médula ósea, etc.)

Hace más de 40 años que la comunicación del Dr. Sydney Farber y sus colegas del Hospital de Niños de Boston marcó un hito en el tratamiento y la investigación del cáncer: la inducción de la remisión transitoria con el empleo de quimioterapia en las leucemias agudas<sup>2</sup>. Esto abrió una esperanza para una enfermedad que previamente era inexorablemente fatal en el plazo de pocas semanas o meses. En una revisión de la literatura de los años 1924 a 1948 sobre niños con leucemia aguda, el Dr. Harold Tivey estableció que, administrando sólo terapia de sostén, el 50% de los niños fallecían en un período aproximado de 4 meses a partir de los síntomas iniciales, y que sólo un 10% llegaba a sobrevivir 11 meses, en tanto que todos fallecían en menos de 16 meses de evolución<sup>3</sup>. La droga que el Dr Farber y sus colegas usaron fue la aminopteina, un análogo del ácido fólico que antagoniza los efectos de esa vitamina en la síntesis del DNA provocando un freno de la multiplicación celular.

En la década del 50, el Dr. Wolf W. Zuelzes un excepcional investigador en numerosos campos de la Pediatría, implementó nuevas estrategias terapéuticas con el uso de un tratamiento cíclico y quimioterapia combinada, alcanzando una supervivencia mediana de 14 meses, que en el 10% de los niños era mayor de 30 meses<sup>4</sup>. Pero la primera evidencia de que el 50% de los niños con LLA se podían curar sobrevivió con los estudios del St. Jude Children's Research Hospital iniciados en 1968<sup>5</sup> y el estudio alemán de Berlín-Frankfurt-Munster iniciado en 1970<sup>6</sup>.

En los pasados 20 años se ha logrado una ostensible mejoría en las tasas de supervivencia libre de eventos a largo plazo de los pacientes pediátricos con LLA. El advenimiento de protocolos de poliquimioterapia, junto con una efectiva prevención de las recaídas en el sistema nervioso central, han sido las dos herramientas que han permitido resultados de alrededor de 50-70% de supervivencia libre de eventos en todo el mundo<sup>7</sup>.

El mayor impacto en los resultados de los tratamientos para pacientes con LLA sin tratamiento previo, en los países latino-americanos, ha sido la utilización de las estrategias de los protocolos del grupo alemán Berlín-Frankfurt-Munster (BFM), lo cual fue puesto de manifiesto por el análisis de 9 protocolos consecutivos del grupo GATLA/GLATHEM<sup>8</sup>. De todos modos, el mayor obstáculo para lograr la curación de estos pacientes continúa siendo la recaída hematológica, la cual se produce más frecuentemente durante la fase de continuación del tratamiento. El objetivo de esta fase del tratamiento es lograr una reducción continua y gradual de las células leucémicas residuales. De acuerdo con la hipótesis de Goldie- Coldman<sup>9</sup>, el uso de quimioterapia con un esquema de combinación rotacional tendría como objetivo vencer la resistencia a drogas a través de la exposición de las células a la acción de diversos agentes por cortos períodos de tiempo, logrando así una reducción más efectiva de la enfermedad mínima residual.

En este trabajo presentamos los resultados de 98 pacientes ingresados en el protocolo 7-LLA-87, basado en el BFM, en nuestra institución. Los objetivos de este estudio son:

- 1) La utilización de una combinación de quimioterapia que permita obtener la remisión y curación a largo plazo de niños con LLA en Argentina.
- 2) Adecuar la intensidad del tratamiento a dos grupos de pacientes de diferente pronóstico.
- 3) Randomizar los pacientes del grupo de alto riesgo y comparar en los mismos la efectividad y la toxicidad de dos subgrupos de terapia de continuación: una estándar (6-mercaptopurina oral diaria y metotrexato oral semanal con pulsos de vincristina y prednisona trimestrales), versus cuatro pares de drogas (etopósido + ciclofosfamida; 6-mercaptopurina + metotrexato; tenipósido + citarabina y vincristina + prednisona) rotados semanalmente hasta completar 24 meses de tratamiento, luego de haber completado los protocolos I, M y II, como terapia inicial.

## MATERIAL Y METODOS

Desde agosto de 1987 a diciembre de 1989, fueron ingresados en el protocolo 7-LLA-87, 98 pacientes menores de 16 años con el diagnóstico de LLA sin tratamiento previo, en el Hospital de Pediatría Garrahan. Seis pacientes fueron excluidos de esta

evaluación: 4 pacientes por estar asociados a enfermedades genéticas (Síndrome de Down 2 pacientes, síndrome de Bloom 1 paciente, enfermedad de Von Recklinghausen 1 paciente) y los 2 restantes porque la familia se negó al tratamiento. El protocolo fue aprobado por nuestro Comité Institucional para la Revisión de Ensayos Clínicos.

Todos los pacientes que reunieron criterios diagnósticos de LLA, excluyendo a los pacientes antes mencionados y aquellos con fenotipo de células B maduras y morfología FAB L3, fueron elegibles para este estudio. El diagnóstico se basó en la evaluación morfológica de extendidos de médula ósea coloreados con la técnica de Wright. En todos los casos, los blastos fueron negativos con la determinación de mieloperoxidasa. Los antígenos de superficie celular fueron detectados mediante técnicas estandarizadas que incluían el uso de la técnica de inmunofluorescencia indirecta mediante paneles de anticuerpos monoclonales. No se reportarán los hallazgos citogenéticos debido a que se llevaron a cabo sólo en un tercio de los pacientes.

La remisión completa fue definida como la ausencia de síntomas y signos de leucemia, "performance status" normal, ausencia de blastos en sangre periférica, y/o líquido cefalorraquídeo así como un porcentaje menor de 5% de los mismos en la médula ósea luego de la recuperación hematológica. El compromiso leucémico del SNC se definió como la presencia de más de 5 células nucleadas en el líquido cefalorraquídeo con blastos en el citocentrifugado. Fueron incluidos asimismo los pacientes con signos clínicos de compromiso del SNC, como por ejemplo parálisis facial o síndrome hipotalámico con líquido cefalorraquídeo normal.

La sobrevida libre de eventos (SLE) fue calculada desde la fecha de inicio del tratamiento hasta la aparición de un evento o la fecha de último contacto cuando éstos no ocurrieron. Fueron considerados eventos tanto el fracaso de lograr la remisión (muerte temprana o falta de respuesta) o la terminación de la primera remisión (recaída o muerte por cualquier causa). La presencia de segundas neoplasias fue considerada como evento.

Todos los pacientes fueron clasificados en dos grupos: El primero de ellos incluyó a aquellos niños con baja probabilidad de recaída (bajo riesgo) y el segundo, los niños con alta probabilidad de recaída (alto riesgo). Los criterios de inclusión en cada grupo fueron:

a) Grupo de bajo riesgo: edad igual o mayor de 2 años y menor de 10 años más un recuento de glóbulos blancos menor de  $10 \times 10^9/L$  al diagnóstico siempre y cuando no estuviera presente ningún factor de riesgo que lo incluyera en el grupo de alto riesgo que se describe a continuación.

b) Grupo de alto riesgo: edad menor de 2 años o igual o mayor de 10 años y/o recuento de glóbulos

blancos igual o mayor de  $10 \times 10^9/L$  en el momento del diagnóstico, compromiso inicial del sistema nervioso central, del mediastino o del testículo, inmunofenotipo T, recuento de blastos en sangre periférica mayor de o igual a  $1 \times 10^9/L$  luego de 7 días de monoterapia con prednisona o la persistencia de una cantidad igual a o mayor del 5% de blastos en la médula ósea en los días 22 ó 43 de la inducción.

El factor de riesgo fue calculado prospectivamente en todos los pacientes de acuerdo a Langermann et al<sup>10</sup>. Factor de riesgo =  $0.2 \log (B+1) + 0.06 H + 0.04 S$  (B=blastos/microlitro en la sangre periférica, H= hepatomegalia en centímetros por debajo del reborde costal y S=esplenomegalia en centímetros por debajo del reborde costal).

El protocolo de quimioterapia contempló una duración de 2 años y se basó en el protocolo ALL/BFM 86<sup>11</sup>. Consistió en protocolo I, protocolo M y una fase de continuación en los pacientes de bajo riesgo y protocolo I, protocolo M y protocolo II seguidos de una fase de continuación en los pacientes de alto riesgo (Figura 1). Solamente en este último grupo, se realizó una randomización prospectiva en el momento del diagnóstico sobre el tipo de quimioterapia de continuación a seguir. Los pacientes fueron randomizados a recibir el subgrupo de continuación estándar con 6 mercaptopurina diaria y metotrexato oral semanal con pulsos trimestrales de una dosis de vincristina, prednisona durante 7 días y una dosis de triple quimioterapia intratecal o el subgrupo de mantenimiento rotacional semanal (etopósido + ciclofosfamida, 6 mercaptopurina + metotrexato, tenipósido + citarabina y vincristina + prednisona) (Tabla 1).

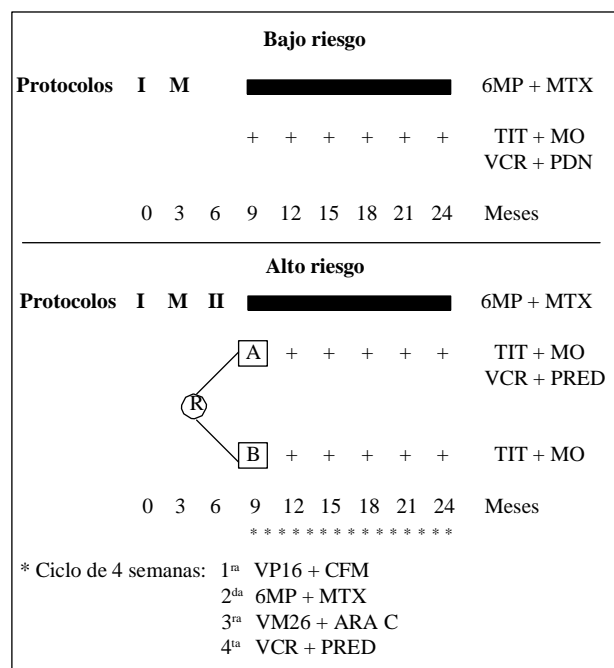


Figura 1: Esquema general de tratamiento.

**TABLA 1: DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO**

<p><b>PROTOCOLO I</b></p> <p><b>Inducción</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Prednisona 60 mg/m<sup>2</sup>/día oral x 28 días</li> <li>- Vincristina 1.5 mg/m<sup>2</sup>/dosis IV días 8,15,22 y 29 (dosis máxima 2 mg)</li> <li>- Daunorubicina 40 mg/m<sup>2</sup>/dosis IV días 8,15,22 y 29</li> <li>- L-Asparaginasa 10,000 IU/m<sup>2</sup>/dosis IM días 8,10,12,15,17,19,22,24,26</li> <li>- TIT dosis de acuerdo a la edad días 1 y 15 (ver texto)</li> </ul> <p><b>Intensificación</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ciclofosfamida 600 (bajo riesgo) y 1000 (alto riesgo) mg/m<sup>2</sup>/dosis IV día 43</li> <li>- Cytarabina: 75 mg/m<sup>2</sup>/dosis SC días 43-46,50-53,57-60,64-67</li> <li>- 6-Mercaptopurina 60 mg/m<sup>2</sup>/día oral 28 días</li> <li>- TIT dosis de acuerdo a edad día 43</li> </ul>
<p><b>PROTOCOLO M</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 6-Mercaptopurina 60 mg/m<sup>2</sup>/día oral 28 días</li> <li>- Metotrexato 1 g/m<sup>2</sup>/dosis IV (infusión de 24 hs) 1,15,29,43</li> <li>- Rescate leucovorínico 30 mg/m<sup>2</sup>/dosis IV hora 36,42 and 3 mg/m<sup>2</sup>/dosis oral horas 54,66,78</li> <li>- TIT dosis de acuerdo a la edad días 1115129143</li> </ul>
<p><b>PROTOCOLO II (Intensificación retardada)</b></p> <p><b>Alto riesgo solamente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dexametasona 10 mg/m<sup>2</sup>/día oral 1 al 7; 8 mg/m<sup>2</sup>/día oral días 8 to 14; 6 mg/m<sup>2</sup>/día días 15 al 22</li> <li>- Vincristina 1.5 mg/m<sup>2</sup>/dosis IV días 118115122</li> <li>- Adriamicina 30 mg/m<sup>2</sup>/dosis IV días 1,8,15,22</li> <li>- L-Asparaginasa 10,000 IU/m<sup>2</sup>/dosis IM días 1,4,8,12</li> <li>- Ciclofosfamida 1000 mg/m<sup>2</sup>/día 29</li> <li>- Citarabina: 75 mg/m<sup>2</sup>/dosis SC días 29-32 y 36-39</li> <li>- 6-Mercaptopurina 60 mg/m<sup>2</sup>/día oral días 29 al 43</li> <li>- TIT dosis de acuerdo a la edad días 29-36</li> </ul>
<p><b>Los pacientes del grupo de bajo riesgo recibieron la rama A sin randomización</b></p> <p><b>Los pacientes de alto riesgo fueron randomizados entre:</b></p> <p><b>RAMA A. ESTANDAR</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 6-Mercaptopurina 60 mg/m<sup>2</sup> día oral</li> <li>- Metotrexato 20 mg/m<sup>2</sup>/semanalmente oral</li> <li>- Pulsos trimestrales de: -Vincristina 1.5 mg/m<sup>2</sup>/dosis IV día 1 (dosis máxima 2 mg)</li> <li>- Prednisona 40 mg/m<sup>2</sup> oral durante 7 días</li> <li>- TIT dosis de acuerdo a la edad día 1</li> <li>- Hasta completar 24 meses de todo tratamiento</li> </ul>
<p><b>RAMA B: ROTACIONAL SEMANAL</b></p> <p>Se emplearon semanalmente 4 pares de drogas hasta completar 24 meses de todo tratamiento</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Semana 1: Etoposido + Ciclofosfamida</li> <li>- Semana 2: 6-Mercaptopurina + Metotrexato</li> <li>- Semana 3: Teniposido + Citarabina</li> <li>- Semana 4: Vincristina + Prednisona</li> </ul> <p>Cada 12 semanas: TIT en dosis de acuerdo a edad (día 1)</p> <p><b>Dosis:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etoposido 300 mg/m<sup>2</sup> IV en infusión de 30-60 minutos</li> <li>- Ciclofosfamida 300 mg/m<sup>2</sup> IV</li> <li>- Metotrexato 40 mg/m<sup>2</sup> oral o IM</li> <li>- 6-Mercaptopurina 75 mg/m<sup>2</sup> oral diariamente</li> <li>- Teniposido 150 mg/m<sup>2</sup> IV en infusión de 30-60 minutos</li> <li>- Citarabina 300 mg/m<sup>2</sup> IV</li> <li>- Vincristina 1.5 mg/m<sup>2</sup> (dosis máxima 2 mg)</li> <li>- Prednisona 40 mg/m<sup>2</sup> oralmente por 7 días</li> </ul>
<p>Abreviaturas: TIT: Terapia intratecal triple (Metotrexato, Citarabina y Dexametasona)</p>

La profilaxis al SNC fue llevada a cabo con triple quimioterapia intratecal: 3 dosis durante el protocolo I, 4 dosis durante el protocolo M, 2 dosis durante el protocolo II y trimestralmente durante la fase de continuación. La triple quimioterapia intratecal consistió en metotrexato (12/10/8 mg), citarabina (36,25,20 mg) y dexametasona (4/2/2 mg) administrados en dosis variables según la edad (3 años, < de 3 años y < de 1 año, respectivamente). Los pacientes con un recuento de blancos inicial mayor o igual a  $10 \times 10^9 /L$  y/o masa mediastinal y/o inmunofenotipo T recibieron 2400 cGy de radioterapia craneana profiláctica antes del protocolo II y la quimioterapia intratecal fue omitida durante la fase de continuación.

La SLE fue calculada de acuerdo al método de Kaplan-Meier<sup>12</sup>. Los datos fueron actualizados al 1 de enero de 1997. El error estándar (EE) fue calculado de acuerdo a Peto et al<sup>13</sup>. Las diferencias en términos de sobrevida fueron analizadas mediante el log-rank test<sup>14</sup>. La prueba del chi cuadrado fue utilizada para comparar la tasa de respuesta, la proporción de muertes en inducción y las tasas de recaídas.

## RESULTADOS

Las características clínicas y de laboratorio al ingreso de los 92 pacientes evaluables se describen en la Tabla 2. La edad media fue de 4 años (rango 1 mes - 15 años). La media del recuento de glóbulos blancos al diagnóstico fue de  $11.9 \times 10^9/l$  (rango 1.1 - 1.020). Todos los pacientes eran de raza blanca. Las diferencias de los hallazgos entre el grupo de bajo riesgo (n=27) y el de alto riesgo (n=65) reflejan los criterios de selección.

De los 92 pacientes elegibles, 88 lograron la remisión completa: 26 de 27 (96%) entre los pacientes del grupo de bajo riesgo y 62 de 65 (95%) entre los pacientes de alto riesgo. Un paciente en cada grupo falleció en la inducción: uno a causa de una tiflitis aguda y el restante por un cuadro séptico luego de una perforación intestinal. Adicionalmente, un paciente obtuvo una remisión parcial y otro tuvo enfermedad refractaria en el grupo de alto riesgo. Ambos fallecieron con enfermedad leucémica progresiva posteriormente.

La distribución de los eventos de acuerdo al grupo de riesgo se describe en la Tabla 3. Tal como era esperable, hubo un mayor número de eventos en el grupo de alto riesgo a pesar de haber recibido un tratamiento más intenso. Sin embargo, el valor de p no fue significativo. Una paciente en el grupo de alto riesgo que fue incluido en la rama de continuación rotacional semanal, presentó una leucemia secundaria de tipo no linfoblástico FAB M5, 46 meses luego del diagnóstico<sup>15</sup>. Afortunadamente, tuvo una buena respuesta al tratamiento y se halla viva en remisión completa luego de 48 meses

**TABLA 2: CARACTERISTICAS DE LOS PACIENTES AL DIAGNOSTICO Y RESPUESTA AL TRATAMIENTO**

Característica	Bajo Riesgo (n = 27)	Alto Riesgo (n = 65)
Edad (#)	4 años (2-9)	7 años (1 mes- 15 años)
Sexo M / F (*)	10 / 17	36/29
Leucocitos 10.000/ $\mu$ l(#)	5.000 (1,1-9,7)	23.000 (1,3-1.020.000)
Plaquetas 10.000/ $\mu$ l(#)	74.000 (0-460.000)	70.000 (0-235.000)
Factor de Riesgo (#)	0,6 (0-1,4)	1,12 (0-2,05)
Mediastino (*)	0	13
S.N.C. (*)	0	4
<b>Inmunofenotipo</b>		
Early B / Común (*)	1/20	7/33
Pre B / T (*)	2/0	1/17
Mixta / Inclasificable (*)	0/0	4/1
No Hecho (*)	4	2
Buena respuesta a la Prednisona (*)	27	50
Médula Osea en remisión el día 22 (*)	25	53

(\*) Número de pacientes. (#) Media (rango)

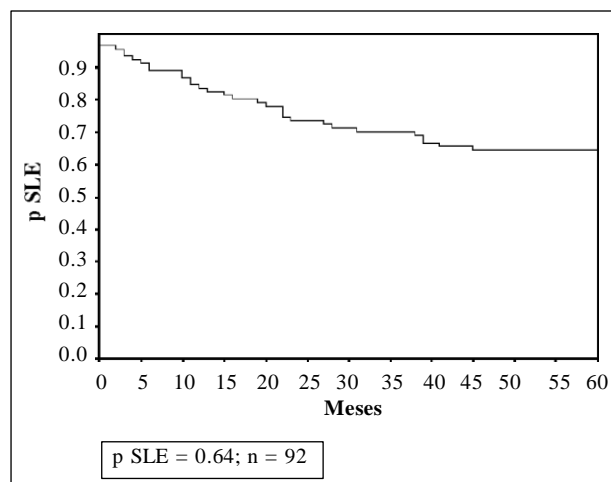
Con una mediana de seguimiento de 98 meses (rango 84-112 meses), la probabilidad de SLE a 5 años es de 64 % EE 5 para el total de la población estudiada (Figura 2). Cuando se estudiaron ambos grupos de riesgo por separado, se encontró que los pacientes del grupo de bajo riesgo presentaron una probabilidad de SLE de 77 % EE 8 y en los pacientes de alto riesgo esta cifra fue de 59 % EE 6. El valor de p fue 0.17 (Figura 3).

**TABLA 3: EVENTOS SEGUN GRUPOS DE RIESGO**

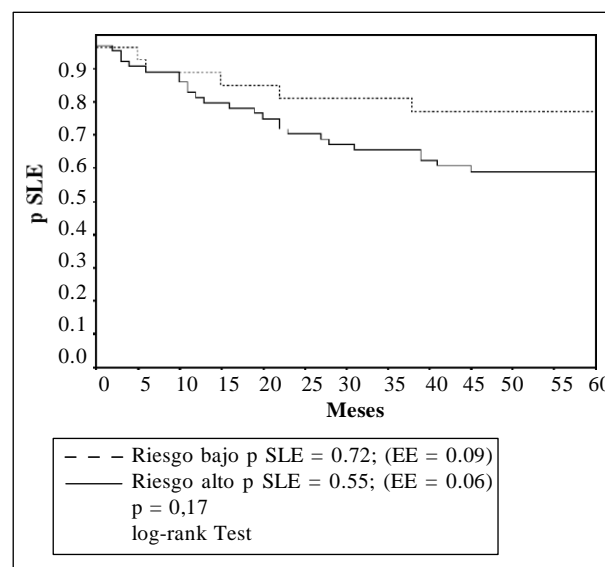
Evento	Bajo Riesgo (n = 27)	Alto Riesgo (n = 65)	p
Fallo de la Inducción (*)	1 (3,9%)	3 (4,6%)	-
Recaídas			
- M.O. (*)	4 (14,8%)	15 (23 %)	ns
- M.O. + S.N.C. (*)	1 (3,9%)	0	-
- S.N.C. (*)	0	3 (4,6%)	-
- Testículo (*)	0	2 (2,9%)	-
Muertes en Remisión			
Completa (*)	1 (3,9%)	4 (6,0%)	ns
Leucemia Mielode			
Secundaria (*)	0	1 (1,5%)	-
Pacientes en Remisión			
Completa (*)	20 (74 %)	37 (56,9%)	-

ns: no significativo; (\*) Número de Pacientes

Si se analizan la probabilidad de SLE de acuerdo al factor de riesgo del BFM<sup>10</sup>, se obtiene el siguiente resultado: en pacientes con factor de riesgo menor de 0.8 (13 eventos sobre un total de 36 pacientes) la probabilidad de SLE fue de 62%; mientras que en los que presentaban un factor de riesgo mayor o igual a 0.8 (20 eventos en 56 pacientes) esta cifra fue de 64% (p=0.74). Además, la SLE a 5 años de acuerdo a la respuesta inicial a la prednisona fue la siguiente: grupo con buena respuesta (< 1000 blastos/mm<sup>3</sup> en sangre periférica en el día 8) (26 de 77 pacientes), SLE 68%, mientras que en el grupo de malos respondedores, esta figura fue de 53% (p=0.1721).



**Figura 2:** Probabilidad de sobrevida libre de eventos para toda la población.



**Figura 3:** Sobrevida libre de eventos según grupo de riesgo.

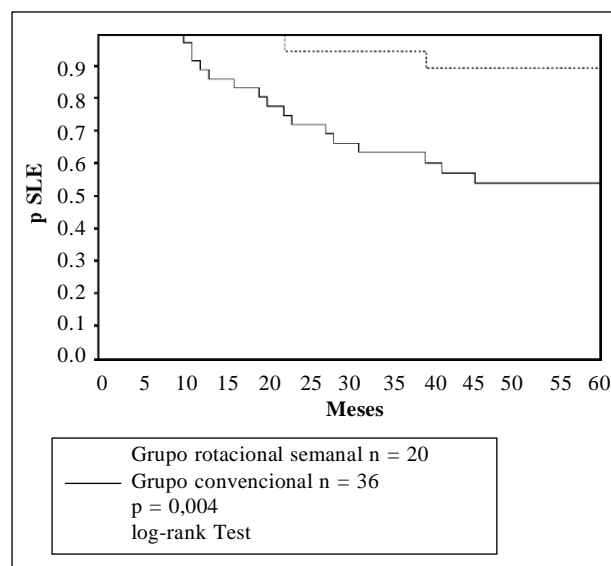
del diagnóstico de la segunda enfermedad y 94 meses del diagnóstico de la enfermedad original.

De los 62 pacientes en el grupo de alto riesgo que lograron la remisión completa, 6 presentaron un

**TABLA 4: CARACTERISTICAS DE LOS PACIENTES DE ALTO RIESGO QUE ENTRARON EN LA FASE DE CONTINUACION**

Características	Estándar (n =36)	Rotacional (n = 20)	p
Edad	7 años (4m-15a)	8,5 años (1-13a)	n.s
Sexo M / F (*)	17/19	12/8	n.s
Leucocitos 10.000/ $\mu$ l	65.000 (1.700-480.000)	71.800 (1.300-520.000)	n.s
Plaquetas 10.000/ $\mu$ l	64.000 (1.000-237.000)	51.600 (7.000-160.000)	n.s
Inmunofenotipo			
- Early B / Común (*)	4/21	1/11	n.s
- PreB/T(*)	1/7	0/6	n.s
- Mixta / No Hecho (*)	2/1	1/1	n.s
Mediastino (*)	6 (18 %)	4 (19 %)	n.s
S.N.C. (*)	2 (5,5%)	1 (5 %)	n.s
Buena respuesta a la Prednisona (*)	29 (80 %)	15 (71,4%)	n.s
M.O. en remisión el día 22 (*)	29 (80 %)	19 (90,4%)	n.s
Radioterapia craneana preventiva (*)	12 (34,3%)	7 (33,3%)	n.s

n.s.: no significativo; (\*) Número de pacientes (%)



**Figura 4:** Sobrevida libre de eventos en paciente de alto riesgo de acuerdo a grupos de tratamiento.

evento antes de alcanzar la fase de continuación, 2 tuvieron una recaída en el SNC, 1 una recaída testicular y 3 pacientes murieron en remisión por sepsis durante un episodio de neutropenia. Por lo tanto, 56 pacientes pudieron ser evaluados con respecto al beneficio y/o toxicidad de la terapia de continuación. Treinta y seis pacientes fueron asignados al azar al subgrupo estándar y 20 pacientes al subgrupo rotacional semanal. El número de pacientes no estuvo balanceado debido a que la randomización fue llevada a cabo en una oficina central de estadística. Las características de los pacientes de alto riesgo que entraron a la fase de continuación se describen en la Tabla 4. No hubieron dife-

rencias significativas en las características clínicas y de laboratorio entre ambos grupos. Tampoco las hubieron con respecto a la respuesta inicial a la semana de prednisona o al uso de radioterapia craneana profiláctica. Sin embargo, 17 de 36 pacientes asignados al subgrupo de continuación estándar padecieron un evento durante esta fase o luego de haber finalizado el tratamiento. Hubieron 14 recaídas medulares, 1 recaída en SNC, 1 recaída testicular y 1 muerte en remisión completa. En contraste, sólo 2 de 20 pacientes en el subgrupo de continuación rotacional semanal presentaron eventos durante la terapia de continuación o luego de haber finalizado el tratamiento. Uno de ellos presentó una recaída medular y el

restante una leucemia monoblástica secundaria, ya mencionada. La probabilidad de SLE desde el comienzo de la terapia de continuación es de 90 % EE 6 en los pacientes del subgrupo de continuación rotacional semanal (n=20) y de 54 % EE 8 en los pacientes del subgrupo de continuación estándar. El valor de p fue significativo (p=0.004). (Figura 4).

El análisis de la tolerancia durante la terapia de continuación se muestra en la Tabla 5. Como se relató previamente, un paciente en la rama rotacional desarrolló una leucemia monoblástica aguda secundaria 46 meses después del diagnóstico de su enfermedad primitiva. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados.

**TABLA 5: TOLERANCIA DE LA FASE DE CONTINUACION EN EL GRUPO DE ALTO RIESGO**

Problema	Estándar (n = 36)	Rotacional (n = 20)
Interrupción (*)	1 (0-3)	5 (0-9)
Semanas con N.A.N. <500/ $\mu$ l	0 (0-5)	2 (0-6)
Internaciones (*)	0 (0-3)	1 (0-4)
Días de internación (*)	17 (5-88)	9,5 (3-66)
Número de transfusiones GRS/Plaquetas	1./1	2/0
Catéter central	3	4
Causa de internación		
- Neutropenia febril	57	75
- Varicela-Zoster	14	11
- Neumopatía	14	8
- Otras	15	6

(\*) Media (rango); N A.N.: Número absoluto de neutrófilos

## DISCUSION

Uno de los datos más importantes de este trabajo es haber obtenido una sobrevida libre de eventos de 64 % para un grupo no seleccionado de niños con LLA consecutivamente diagnosticados y tratados en un hospital pediátrico en Argentina. Nosotros atribuimos estos buenos resultados a la convergencia de dos puntos importantes: por un lado, el uso de una buena combinación de protocolos, el del grupo alemán Berlín-Frankfurt-Munster en las etapas iniciales del tratamiento junto con la terapia de continuación de uno de los subgrupos del protocolo Total 6 del Hospital St. Jude; y por otro lado los cuidados de soporte pediátrico adecuados, aportados por los pediatras de planta de nuestro hospital. En nuestra opinión, no hay dudas de que los puntos cruciales para lograr la eficacia de un tratamiento para este tipo de patologías son una inducción intensa, una fase con administración de metotrexato a altas dosis, seguidos de una intensificación retardada y luego una fase de continuación adecuada a cada grupo de riesgo.

A pesar de que nuestro grupo de bajo riesgo sólo comprende niños con características "muy favorables" (edad de 2 a 10 años y recuento de leucocitos menor de  $10 \times 10^9/L$ ) no existe diferencia significativa entre la curva de SLE comparada con la de los pacientes de alto riesgo (77% versus 61 %). Esto podría ser explicado, en parte, por la administración de la intensificación retardada (protocolo II) en los pacientes de alto riesgo y una fase de continuación más intensa en una parte de ellos, como así también por el escaso número de la población.

La 6-mercaptopurina y el metotrexato son reconocidos como las drogas clásicamente usadas en la fase de continuación de los protocolos de LLA. El agregado de quimioterapia adicional durante la fase de continuación oral (llamada terapia de refuerzo, terapia suplementaria o "pulsos") fue incorporado por muchos investigadores con el objeto de prevenir el desarrollo de resistencia a la quimioterapia y para mejorar los resultados de sobrevida libre de eventos<sup>16-19</sup>.

Existe gran controversia sobre el beneficio de los pulsos de vincristina-prednisona en la fase de continuación de los niños con LLA. En un estudio realizado por Aur y col. publicado en 1973, el autor concluye que los pulsos de vincristina-prednisona no mejoran la duración de la remisión completa<sup>20</sup>. Tampoco el Children's Cancer Study Group (CCG) en 1981 logra demostrar beneficios de los pulsos de vincristina-prednisona en los pacientes de bajo riesgo<sup>21</sup>. Posteriormente, una evaluación más reciente del CCG-161, muestra una sobrevida libre de eventos superior, lograda en los pacientes de bajo riesgo que recibieron pulsos de vincristina-prednisona y quimioterapia intratecal durante su fase de continuación<sup>22</sup>. En lo que respecta a estudios pre-

vios del grupo GATLA/GLATHEM no fue posible demostrar ningún beneficio con la administración de pulsos alternantes de vincristina-prednisona y citarabina-ciclofosfamida versus vincristina-prednisona solamente, adicionados a 6-mercaptopurina y metotrexato en la fase de continuación de pacientes tratados por LLA<sup>23</sup>. Así pues las cosas, el valor de los pulsos o refuerzos, después de una terapia de inducción intensa, no es claro. Riehm y col.<sup>24,25</sup> establecieron que son varias las circunstancias que restringen la comparación y hacen difícil obtener conclusiones a partir de la literatura existente sobre el tema; ésto se debe fundamentalmente a dos razones: diferentes métodos de selección y estratificación de pacientes y fundamentalmente diferentes tratamientos iniciales. Un ejemplo de esto es la crítica publicación de Simón<sup>19</sup> quien, realizando una revisión de los resultados de los protocolos del St. Jude Children's Research Hospital en leucemia linfoblástica aguda, muestra que los resultados del estudio Total 7 usando refuerzos de quimioterapia fueron aún inferiores que los de los estudios Total 6 y Total 8, en los cuales se agregaba un tercer agente para la inducción de la remisión.

En lo que respecta a nuestros pacientes, en el grupo de alto riesgo la terapia de continuación comenzó alrededor de 6 a 7 meses después del diagnóstico, y luego de haber recibido una quimioterapia intensa, tal como el protocolo I, protocolo M y protocolo II. Sobre este tema existen tres estudios publicados en los cuales se randomiza a los pacientes en dos diferentes tipos de refuerzos durante la fase de continuación, después de realizar una terapia inicial basada en el tratamiento del grupo alemán (BFM). Haas y col.<sup>26</sup> utilizaron tres pulsos mensuales de terapia con vincristina + adriamicina + prednisona. Henze y col.<sup>27</sup> realizaron tres pulsos de vincristina + prednisona durante el primer año de la fase de continuación. Janka-Schaub y col.<sup>28</sup> adicionaron pulsos de vincristina + prednisona versus dosis intermedias de metotrexato y prednisona cada tres meses, realizadas tres veces durante el primer año de la fase de continuación. Los resultados de estos tres estudios randomizados con diferentes tipos de refuerzos fueron similares: ninguno logró demostrar superioridad en cuanto a tasa de SLE, siendo mayor la morbilidad al utilizar los pulsos. En consecuencia, los pulsos fueron omitidos en estudios alemanes subsiguientes. La discrepancia con respecto a estudios previos que demostraban el beneficio de los refuerzos fue explicada por una más agresiva quimioterapia inicial de los estudios del BFM.

Nosotros seleccionamos para este estudio la terapia de continuación rotacional semanal sobre la base del estudio Total 11 del St. Jude Children's Research Hospital<sup>29</sup>. Nuestro objetivo era explorar, a través de una investigación clínica controlada, la

posible superioridad de esta terapia rotacional sobre la administración prolongada de 6-mercaptopurina diaria y metotrexato semanal con pulsos trimestrales de vincristina-prednisona. Con una media de seguimiento de 98 meses (rango: 84-112 meses), los pacientes de alto riesgo que recibieron la fase de continuación rotacional con los cuatro pares de drogas, obtuvieron resultados significativamente mejores que los que recibieron la fase de continuación estándar ( $p=0.004$ ).

Una posible explicación para la diferencia con respecto a los resultados del estudio del St. Jude 7 es que nosotros utilizamos la terapia de continuación rotacional luego de 6-7 meses de intensa terapia inicial (protocolo I, protocolo M y protocolo II) y en los estudios del St. Jude esta terapia rotacional era administrada luego de sólo dos meses de una intensa terapia inicial.

Un dato muy interesante fue que diferentes diseños de estudios de investigadores alemanes<sup>30</sup> mostraron que la rotación de una efectiva combinación de cinco o seis drogas, realizada en forma lenta o rápida, podría ofrecer mejores resultados sobre la terapia convencional, para los niños con LLA del grupo de alto riesgo.

El tratamiento de continuación de este estudio tuvo pocos efectos colaterales y los pacientes lo recibieron en forma ambulatoria. Cabe mencionar que los pacientes asignados al subgrupo rotacional necesitaron concurrir más frecuentemente al hospital, ya que el esquema de administración de drogas quimioterápicas era semanal y requería de un control hematológico previo para su cumplimiento. El número de hospitalizaciones fue similar en ambos subgrupos, a pesar de que el número de veces que la terapia debió ser interrumpida y el número de semanas con neutropenia severa fue mayor en el subgrupo rotacional semanal. De todos modos la tolerancia en ambos grupos fue comparable; un paciente falleció en remisión completa en el grupo de continuación estándar, versus ninguno en el grupo rotacional semanal. En este subgrupo, un paciente desarrolló una leucemia monoblástica secundaria luego de una LLA común<sup>9</sup>, seguramente relacionada al uso de epipodofilotoxinas. Esta es la complicación mencionada repetidamente en la literatura como la más preocupante asociada al uso de este tipo de tratamientos<sup>31,32</sup>, pero al parecer podría ser esquema-dependiente<sup>33</sup>. Además actualmente sabemos que el riesgo de presentar leucemias secundarias no debe ser solamente atribuido a la administración de epipodofilotoxinas sino también a otros inhibidores de la topoisomerasa II así como también a los agentes alquilantes.

Una advertencia que debemos hacer es que los resultados de nuestro estudio deben ser tomados con precaución por varias razones: en primer lugar porque se trata de una población cuyo tamaño es

modesto; segundo, el número de pacientes de cada subgrupo es dispar, si bien al comparar sus características no hay diferencias significativas y tercero, los resultados del grupo que recibe la terapia estándar son particularmente pobres.

Cabe destacar, aún con las salvedades mencionadas en los párrafos anteriores, que los resultados alcanzados para los pacientes de alto riesgo de este grupo de análisis superan los obtenidos por grupos conocidos internacionalmente en el manejo de LLA pediátrica. Nosotros creemos que esto se debe a la convergencia, en este protocolo, de las primeras etapas intensas de inducción, consolidación y intensificación retardada del protocolo alemán junto con una de las terapias de continuación del protocolo Total 11 que ha demostrado ser efectiva y bien tolerada.

## CONCLUSION

El tratamiento de los niños y adolescentes con LLA ha sido muy exitoso en las últimas dos décadas. Sin duda se ha producido un enorme beneficio para los pacientes pediátricos portadores de esta enfermedad, que en estos últimos años han visto aumentar significativamente sus posibilidades de curación. Se ha recorrido un largo y fructífero camino desde que el Dr. Sidney Farber presentó el trabajo que permitió abrigar esperanzas de curar estas enfermedades hematológicas malignas, pero todavía se necesita avanzar mucho más. Estos avances requerirán, sin duda, una gran dosis de optimismo, paciencia, soporte económico y perseverancia por parte de pacientes, médicos e investigadores.

Nuestros resultados sugieren que un tratamiento de continuación rotacional semanal podría mejorar la sobrevida libre de eventos de los pacientes de alto riesgo tratados tempranamente con una quimioterapia intensa y prolongada. Obviamente, estos hallazgos deben ser corroborados en futuros estudios. Además, estos datos son coincidentes con los mejores resultados obtenidos actualmente con protocolos más agresivos utilizados para el tratamiento de las enfermedades pediátricas malignas de mal pronóstico.

## BIBLIOGRAFIA

1. de Sarraqueta P, Bilisky P, Martín H, Natri M1 Spinelli H. Mortalidad de niños y adolescentes (1-19 años) en la Ciudad de Buenos Aires en 1988. *Arch Arg Pediatr* 1991; 89:303-318.
2. Farber S, Diamond LK, Mercer RD, Sylvester RFJN, Wolff JA1. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-gluta (aminopterin). *N Engl J Med* 1948; 238:787-793.
3. Tivey H. Prognosis for survival in the leukemias of childhood. *Pediatrics* 1952; 10:48-59.
4. Zuelzer WW, Flatz G. Acute childhood leukemia: a ten-year study. *Am J Dis Child* 1960; 100:886-907.
5. Aur RJA, Simone J, Hustu O et al. Central nervous system therapy and combination chemotherapy of childhood lymphocytic leukemia. *Blood* 1971; 37:272-281.



6. Riehm H, Gadner H, Henze G et al. The Berlin childhood acute lymphoblastic leukemia therapy study, 1970-1976. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1980; 2:299-306.
7. Niemeyer CM, Hitchcock-Bryan S, Sallan SE: Comparative analysis of treatment programs for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Sem Oncol* 1985; 12: 122-130.
8. Sackmann-Muriel F, Pavlovsky S, Lastiri F, et al: Latin-american trial in childhood acute lymphoblastic leukemia: Results of the GATWGLATHEM from 1967 through 1994. *International Journal of Pediatric Hematology/Oncology* (in press)(1997).
9. Goldie JH, Coldman AJ, Gudavskas GA: Rationale for the use of alternating non-cross resistant chemotherapy. *Cancer Treat Rep* 1982;66:439-449.
10. Langermann HJ, Henze G, Wulf M, et al: Abschätzung der Tumorzellmasse bei der akuten lymphoblastischen Leukemie im Kindesalter: Prognostische Bedeutung und praktische Anwendung. *Klin Padiatr* 1982; 194:209-213.
11. Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, et al: Chemotherapy in 998 unselected childhood acute lymphoblastic leukemia patients. Results and conclusions of the multicenter trial ALL- BFM 86. *Blood* 1994;84:3122-3133.
12. Kaplan EL, Meier P: Non-parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958;53:457-481.
13. Peto R, Pike MC, Armitage P, et al: Design and analysis of randomized clinical trials requiring prolonged observation on each patient. II Analysis and examples. *Br J Cancer* 1977;35: 1-39.
14. Tarone RE, Ware J: On distribution-free test for equality of survival distributions. *Biometrika* 1977;64: 156-160.
15. Sackmann-Muriel F, Felice M, Cygler A, et al. Secondary acute monoblastic leukemia in a girl with B-lineage acute lymphoblastic leukemia treated with an epipodophyllotoxin. *Proceedings of the American Society of Pediatric Hematology/Oncology*, 1993;2:23-24 (abstr.).
16. Holland JF, Glindewell O: Complementary chemotherapy in acute lymphoblastic leukemia. *Recent Results in Cancer Research* 1970; 33 :95-108 .
17. Miller DR, Sonley M, Karon M y col: Additive therapy in maintenance of remission in acute lymphoblastic leukemia of childhood: the effect of the initial leukocyte count. *Cancer* 1974; 34 :508-517.
18. Fernbach DJ, George SL, Suttow WW y col: Long term results of reinforcement therapy in children with acute leukemia. *Cancer* 1975; 36 :1552-1559.
19. Simone JV: Factors that influence hematological remission duration in acute lymphoblastic leukemia. *Br J Hematol* 1976; 32 :465-472.
20. Aur RJA, Hustu HO, Verzosa MS y col: Comparison of two methods of preventing central nervous system leukemia. *Blood* 1973; 42 :349-357.
21. Leikin S, Albo V, Lee S y col: Reinduction and pulse therapy in acute lymphoblastic leukemia. A report from the Children's Cancer Study Group. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1981; 22 :486 (abstr).
22. Bleyer WA, Sather HN, Nickerson HJ y col: Monthly pulses of vincristine and prednisone prevent bone marrow and testicular relapse in low-risk childhood acute lymphoblastic leukemia: A report of the Children's Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1991; 9 :1012-1021.
23. Sackmann-Muriel F, Svarch E, Pavlovsky S y col: Alternating pulses of vincristine- prednisone with cytarabine-cyclophosphamide versus vincristine-prednisone in the maintenance therapy of acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Treat Rep* 1984; 68 :581- 586.
24. Riehm H, Gadner H, Henze G, et al: Results and significance of six randomized trials in four consecutive ALL-BFM studies. *Hematology and Blood Transfusion* 1990;33:439-450.
25. Riehm H, Ebell W, Frickert HJ, et al: Acute lymphoblastic leukemia. In Voute PA, Barrett A, Lemerle J (eds) "Cancer in children, Clinical Management", Berlin: Springer Verlag 1992: 85-106.
26. Haas RJ, Janka G, Netzel B, et al: Für die Mitglieder der Studie Münchener Studie zur Behandlung der akuten lymphoblastischen Leukämie im Kindesalter (ALL 77-01). *Klin Padiatr* 1981; 193: 17-22.
27. Henze G, Langermann HJ, Fengler R, et al. Therapiestudie BFM 79/81 zur Behandlung der akuten Lymphoblastischen Leukämie bei Kindern und Jugendlichen: Intensivierte Reinduktionstherapie für Patientengruppen mit unterschiedlichem Rezidivrisiko. *Klin Padiatr* 1982; 194: 195-203.
28. Janka-Schaub GE, Winkler K, Jurgens H, et al: Intermediate- dose methotrexate in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: lack of benefit during maintenance therapy following intensive induction therapy. *Eur J Pediatr* 1986; 145: 14-17.
29. Rivera GK, Raimondi S, Hancock ML, et al: Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia with reinforced early treatment and rotational combination chemotherapy. *Lancet* 1991;337: 61-66.
30. Janka-Schaub GE, Winkler K, Gobel U1 et al: Rapidly rotating combination chemotherapy in childhood acute lymphoblastic leukemia: Preliminary results of a randomized comparison with conventional treatment. *Leukemia* 1988;2:73S-78S.
31. Murphy SB: Secondary acute myeloid leukemia following treatment with epipodophyllotoxins. *J Clin Oncol* 1993,11: 199- 201.
32. Winnick NJ, Mc Kenna RW1 Schuster JJ, et al: Secondary acute myeloid leukemia in children with acute lymphoblastic leukemia treated with etoposide. *J Clin Oncol*. 1993; 11 :209-217.
33. Pui CH, Ribeiro RC, Hancock ML, et al: Acute myeloid leukemia in children treated with epipodophyllotoxins for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1991;325:1682-1687.